

## 低～中分子量のタンパク質の GPC/SEC 分析

### 著者

Mathias Glaßner and  
Jasmin Preis  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

このアプリケーションノートでは、固定相に Agilent PROTEEMA カラムを使用した、水溶性緩衝液に溶解しているタンパク質の GPC/SEC 分析を説明します。

## はじめに

バイオ医薬品に対する分析調査の多くでは、タンパク質の凝集とフラグメンテーションに関する情報が重要です。この情報は、GPC/SEC分析で得られます<sup>1</sup>。

タンパク質の GPC/SEC 分析には、固定相との望ましくない非特異的な相互作用を回避するという課題があります。分析対象の分子量範囲に従って気孔率を選択することにより、PROTEEMA カラムを使用して、さまざまなプロテインを分析できます。

## 結果と考察

堅牢性と信頼性に優れた GPC/SEC によるタンパク質の分析は、固定相として PROTEEMA カラムを、溶出液として pH = 6.6 の水性リン酸緩衝液と 0.5 M 塩化ナトリウムを使用して行われました。

図 1 は、67,000 ~ 243 Da の 5 種類のタンパク質（アルブミン、ベータラクトグロブリン、ミオグロビン、シトクローム c、アプロチニン）と 2 種類の小型の生体分子（ビタミン B12 とシチジン）のサンプルクロマトグラムを重ね表示したものです。クロマトグラフィーは、低～中分子量範囲で良好な分解能を示す PROTEEMA 3  $\mu\text{m}$  100  $\text{\AA}$  カラムで行われました。

## 実験方法

表 1. 機器およびサンプル条件

	条件
ポンプ	イソクラティックポンプ 流量：1 mL/min 移動相：34 mM リン酸緩衝液、pH 6.6、0.5 M 塩化ナトリウム
注入システム	オートサンプラ 注入量：20 $\mu\text{L}$
カラム	PROTEEMA 3 $\mu\text{m}$ 100 $\text{\AA}$ 、8 $\times$ 300 mm (p/n PRA0830031e2)
温度	23 $^{\circ}\text{C}$
サンプル濃度	1 mg/mL
検出器	可変波長 UV-Vis 検出器 (VWD) @ $\lambda = 280 \text{ nm}$
ソフトウェア	Agilent WinGPC

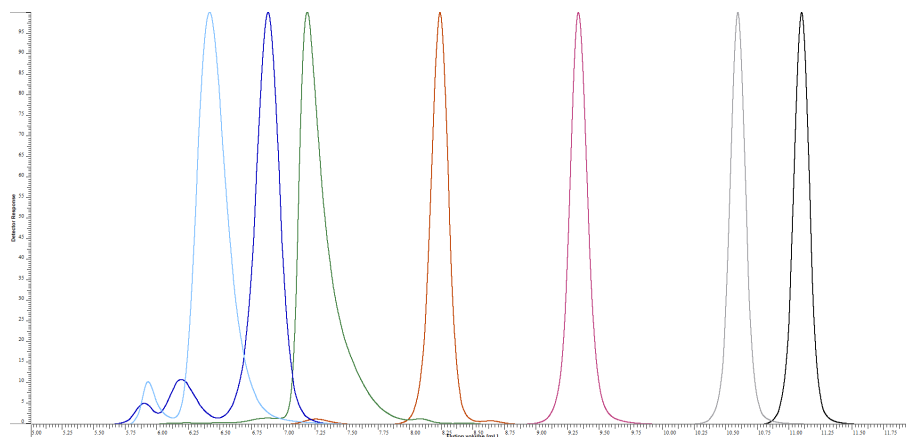


図 1. 67,000 ~ 243 Da の 5 種類のタンパク質と 2 種類の小型の生体分子の 280 nm での UV トレースを重ね表示（正規化後の検出器の反応）。Agilent PROTEEMA 3  $\mu\text{m}$  100  $\text{\AA}$  カラムを使用

## 結論

Agilent PROTEEMA カラムは、水溶性緩衝液に溶けたタンパク質の GPC/SEC 分析に適しています。PROTEEMA 100  $\text{\AA}$  カラムでは、低～中分子量のタンパク質をサイズに従って分離できます。これにより、凝集体やフラグメントの検出が可能になります。

## 参考文献

1. Hong, P.; Koza, S.; Bouvier, E. S. P. Size-Exclusion Chromatography for the Analysis of Protein Biotherapeutics and their Aggregates *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2012**, 35(20), 2923–2950.

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE57786461

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2020, 2023

Printed in Japan, March 2, 2023

5994-5727JAJP